

操作手册

NGS 纯化试剂盒（磁珠法）

Catalog No. CT1501

概述:

本产品为超顺磁性微球，配合独特的缓冲液体系，可纯化PCR产物和NGS文库。本产品操作简单，使用便捷，纯化后的产物可直接用于二代测序等分子生物学实验。本产品可手工操作，也适用于自动化的工作站（例如Beckman, Hamilton, Tecan, Perkin Elmer, Agilent和Eppendorf）。

组件名称	规格（10ml）	规格（50ml）	保存温度
NGS 纯化磁珠	10 ml	50 ml	2-8°C
DNA 洗涤液	24 ml	3x24 ml	常温
DNA 洗脱液	20 ml	50 ml	常温

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。

Ver 1.0.1

注意事项

- 1. NGS纯化磁珠须在 2-8℃ 储存，防止冷冻。
- 2. 使用本产品前，必须仔细阅读本说明书。
- 3. 本产品可1:1完美替换进口磁珠（Agencourt AMpure XP）。
- 4. 本产品中的DNA洗涤液可用70%乙醇代替，DNA洗脱液可用10mM Tris-HCL Ph=8.0溶液代替。

试剂制备

DNA 洗涤液 在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记!!!

DNA 洗涤液应添加 96ml 100%的乙醇(104 ml 95%的乙醇)到 24ml 的 **DNA 洗涤液**中。

操作步骤

针对96孔板：

1. 使用前确保磁珠混合均匀。
2. 计算96孔板中的总反应体系，如果有必要的化将反应体系移到一个96孔微孔板中进行。
注意：如果总反应体系x2.8 超过PCR板的总体积，需要移到一个圆底的96孔板中。
3. 添加DNA1.8倍的磁珠量到每个孔中。

PCR Reaction Volume (μl)	磁珠量 (μl)
10	18
20	36
50	90

4. 用移液器上下吹打5-10次或者涡旋振荡30秒。
5. 室温孵育 5 分钟。
6. 将板子置于磁分离架上，室温下静置直到磁珠完全从溶液中分离出来。
7. 吸走并且去除上一步的上清，不要碰到磁珠。
8. 添加 200μl DNA洗涤液（或70%的乙醇）到每个孔中，在室温下孵育 1 分钟，无需吹打混匀磁珠。
9. 吸走并且去除上清液，不要碰到磁珠。

10. 重复步骤8-9,
11. 尽可能地除尽乙醇, 残留的乙醇可能会影响下游的实验。但注意不要使磁珠干燥过渡, 以免影响洗脱效率。
12. 将板子继续保持在磁分离架上10-15分钟晾干磁珠。如果还有液体残留, 可以用移液器将残留的液体吸走。
13. 将板子从磁力架上移走。
14. 每个孔中添加30-40 μ l的DNA洗脱液, 上下吹打10-20次或涡旋振荡10-20秒。室温下放置2-3分钟。
15. 将板子置于磁分离架上, 静置直到磁珠分离开来, 溶液澄清后小心地将上清转移至新的96孔微孔板中, 所需目的 DNA 即存在于溶液中。
16. 如果DNA在几天之内使用的化板子保存在2-8 $^{\circ}$ C, 如果长期保存, 应存放在-20 $^{\circ}$ C或者更低的温度。

针对384孔板:

1. 使用前确保磁珠混合均匀。
2. 计算384孔板中的总反应体系, 将样品转移到带裙边的384孔PCR板中。
3. 添加DNA1.8倍的磁珠量到每个孔中。

PCR Reaction Volume (μ l)	磁珠量 (μ l)
5	9
7	12.6
10	18

4. 用移液器上下吹打5-10次或者涡旋振荡30秒。
5. 室温孵育 5 分钟。
6. 将板子置于磁分离架上, 室温下静置直到磁珠完全从溶液中分离出来。
7. 吸走并且去除上一步的上清, 不要碰到磁珠。
8. 添加 30 μ l DNA洗涤液 (或70%的乙醇) 到每个孔中, 在室温下孵育 1 分钟, 无需吹打混匀磁珠。
9. 吸走并且去除上清液, 不要碰到磁珠。
10. 重复步骤8-9,

11. 尽可能地除尽乙醇，残留的乙醇可能会影响下游的实验。但注意不要使磁珠干燥过渡，以免影响洗脱效率。
12. 将板子继续保持在磁分离架上10-15分钟晾干磁珠。如果还有液体残留，可以用移液器将残留的液体吸走。
13. 将板子从磁力架上移走。
14. 每个孔中添加20 μ l的DNA洗脱液，上下吹打10-20次或涡旋振荡10-20秒。室温下放置2-3分钟。
15. 将板子置于磁分离架上，静置直到磁珠分离开来，溶液澄清后小心地将上清转移至新的96孔微孔板中，所需目的DNA即存在于溶液中。
16. 如果DNA在几天之内使用的化板子保存在2-8 $^{\circ}$ C，如果长期保存，应存放在-20 $^{\circ}$ C或者更低的温度。

针对单管操作：

1. 使用前确保磁珠混合均匀。
2. 计算单管中的总反应体系，将样品移到一个单管中（例如1.5ml离心管）
3. 添加DNA1.8倍的磁珠量到每个孔中。

PCR Reaction Volume (μ L)	磁珠量 (μ L)
50	90
100	180
150	270

4. 用移液器上下吹打5-10次或者涡旋振荡30秒。
5. 室温孵育 5 分钟。
6. 将管子置于磁分离架上，室温下静置直到磁珠完全从溶液中分离出来。
7. 吸走并且去除上一步的上清，不要碰到磁珠。
8. 添加 500-1000 μ l DNA洗涤液（或70%的乙醇）到管子中，在室温下孵育 1 分钟，无需吹打混匀磁珠。
9. 吸走并且去除上清液，不要碰到磁珠。
10. 重复步骤8-9，
11. 尽可能地除尽乙醇，残留的乙醇可能会影响下游的实验。但注意不要使磁珠干燥过渡，以免影响洗脱效率。

12. 将管子继续保持在磁分离架上10-15分钟晾干磁珠。如果还有液体残留，可以用移液器将残留的液体吸走。
13. 将管子从磁力架上移走。
14. 每个孔中添加最少30 μ l的DNA洗脱液，上下吹打5-10次或涡旋振荡10-20秒。室温下放置2-3分钟。
15. 将管子置于磁分离架上，静置直到磁珠分离开来，溶液澄清后小心地将上清转移至新的管子中，所需目的DNA即存在于溶液中。
16. 如果DNA在几天之内使用的管子保存在2-8 $^{\circ}$ C，如果长期保存，应存放在-20 $^{\circ}$ C或者更低的温度。